

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Lovro Skrba

**Dijagnostika i značaj infekcije
uzrokovane bakterijom *Clostridium difficile***

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Kliničkom zavodu za kliničku i molekularnu mikrobiologiju
Kliničkog bolničkog centra Zagreb, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Ane Budimir i predan je na
ocjenu u akademskoj godini 2016.

POPIS KRATICA

CA-CDI – *engl.* community-associated *Clostridium difficile* infection

CCA – *engl.* cell culture citotoxicity assay

CDAD – *engl.* *Clostridium difficile* – associated diarrhoea

CDI – *engl.* *Clostridium difficile* infection

CO-HCFA – *engl.* community onset, healthcare facility – associated

EIA – *engl.* enzyme immunoassay

FMT – *engl.* fecal microbiota transplantation

GDH – *engl.* glutamat dehydrogenase

HAI – *engl.* healthcare associated infections

HO-HCFA – *engl.* healthcare facility onset, healthcare facility – associated

MIK – minimalna inhibitorna koncentracija

NAAT – *engl.* nucleic acid amplification test

PaLoc – *engl.* pathogenicity locus

PAF – *engl.* population – attributable factor

PCR – *engl.* polymerase chain reaction

TcdA – *engl.* *Clostridium difficile* toxin A

TcdB – *engl.* *Clostridium difficile* toxin B

VRE – *engl.* vancomycin resistant enterococci

SADRŽAJ:

SAŽETAK

SUMMARY

1. UVOD.....	1
2. INFEKCIJA BAKTERIJOM <i>C. DIFFICILE</i> (CDI).....	2
3. EPIDEMIOLOGIJA.....	4
4. PATOGENEZA.....	6
5. PATOFIZIOLOGIJA.....	7
6. RIZIČNI ČIMBENICI.....	8
7. KLINIČKA SLIKA.....	11
8. DIJAGNOZA.....	13
9. TERAPIJA.....	15
10. PREVENCIJA.....	20
11. ZAKLJUČAK.....	23
12. ZAHVALE.....	24
13. LITERATURA.....	25
14. ŽIVOTOPIS.....	28

DIJAGNOSTIKA I ZNAČAJ INFEKCIJE UZROKOVANE BAKTERIJOM CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Lovro Skrba

Sažetak. *Clostridium difficile* (*C. difficile*) najčešći je uzročnik postantimikrobnog proljeva (dijareje), obično povezanog s bolničkim liječenjem. Proljev uzrokovan bakterijom *C. difficile* jedan je u spektru kliničkih entiteta povezanih s infekcijom *C. difficile* (*engl. Clostridium difficile* infection, CDI); osim proljeva infekcija može ostati asimptomatska ili dovesti do stanja poput pseudomembranoznog kolitisa i rjeđe, fulminantnog kolitisa i sepse. U rizične čimbenike za pojavu bolesti ubrajaju se starija životna dob, teške kronične bolesti, dugotrajan boravak u bolnici, kao i boravak u ustanovama za starije osobe i kronične bolesnike. *C. difficile* prisutan je posvuda u okolišu (u tlu, vodi, životinjama), a dio populacije su asimptomatski kliconoše; nalazi se u 15% do 70% novorođenčadi i u 2% do 3% odrasle populacije. Glavni poticajni čimbenik za razvoj infekcije je promjena crijevne flore uzrokovana primjenom antibiotika. Iako većina antibiotika može dovesti do CDI, najveći je rizik kod upotrebe cefalosporina, penicilina i klindamicina, i u novije vrijeme, fluorokinolona. Mikroorganizmi u promijenjenoj crijevnoj okolini rastu i proizvode toksine koji oštećuju crijevnu sluznicu dovodeći do sekrecije tekućine i proljeva, a u težim slučajevima i do formiranja pseudomembrana na njenoj površini. Dijagnoza se postavlja nalazom toksina u stolici, a simptomatski se bolesnici liječe peroralno metronidazolom ili vankomicinom. Za smanjenje širenja infekcije među bolesnicima i zdravstvenim djelatnicima neophodno je primjenjivati mjere za kontrolu infekcije.

Ključne riječi: *C. difficile*, proljev, antibiotici, crijevna flora, toksini

DIAGNOSTICS AND IMPORTANCE OF CLOSTRIDIUM DIFFICILE INFECTIONS

Lovro Skrba

Summary. *Clostridium difficile* (*C. difficile*) is the most common cause of antibiotic-associated diarrhoea, usually occurring during the hospital care. *C. difficile*-associated diarrhoea belongs to a spectrum of clinical entities associated with *C. difficile* infection, CDI; aside from diarrhoea, infection can remain symptomless or it can lead to other conditions, such as pseudomembranous colitis or, rarely, fulminant colitis and sepsis. Risk factors for the disease include older age, severe chronic conditions, long hospital stay and association with other healthcare facilities. *C. difficile* is omnipresent in the environment (in soil, water and animals) with a part of population being asymptomatic carriers; the bacterium can be isolated in 40% – 60% of infants and 2% – 4% of adults. The main inciting factor for the infection is the alteration of normal gut flora caused by the use of antibiotics. Virtually any antibiotic can lead to *C. difficile* infection, but the risk is highest with the use of cephalosporins, penicilins, clindamycin and recently, fluoroquinolones. In such altered environment, the microorganisms thrive and produce toxins which damage the intestinal mucosa leading to fluid secretion and diarrhoea, and in more severe cases plaques called pseudomembranes form on the surface of the intestine. Diagnosis is based on detection of clostridial toxins in the stool and symptomatic patients are treated with oral metronidazole or vancomycin. The implementation of infection control measures is essential to reduce the spread of infection among patients and healthcare workers.

Keywords: *C. difficile*, diarrhoea, antibiotics, gut flora, toxins

1. UVOD

Clostridium difficile je anaerobna, gram-pozitivna bakterija štapičasta oblika što formira spore, a uzročnik je proljeva povezanih s uporabom antibiotika i kolitisom. Bujanje toksigenih sojeva ove bakterije dovodi do različitih kliničkih stanja, od stanja asimptomatskog nosioca, preko proljeva i samoograničavajućeg kolitisa do ozbiljnih stanja poput fulminantnog kolitisa i toksičnog megakolona (1). Infekcija bakterijom *C. difficile* (engl. *Clostridium difficile* infection, CDI) javlja se prvenstveno u hospitaliziranih bolesnika; *C. difficile* je najčešće identificirani uzročnik proljeva u hospitaliziranih bolesnika; gotovo 20% bolesnika bude kolonizirano ovom bakterijom tijekom hospitalizacije, a među njima više od 30% dobije proljev te je time *C. difficile* kolitis danas jedna od vodećih nozokomijalnih infekcija (2). Glavni rizični čimbenik za pojavu ove infekcije je liječenje antibioticima, koji mijenjaju normalnu floru donjeg dijela probavnog trakta. Smatra se da upravo ta promjena kompleksnog mikrobiološkog sustava debelog crijeva omogućuje *C. difficile* da raste i dovede do razvoja bolesti (3). Iako klasično povezana s uporabom klindamicina, infekcija *C. difficile* može se razviti nakon liječenja širokim spektrom antibiotika (4,5,7). U tipičnom slučaju, bolesnik u kontakt s bakterijom dolazi putem sustava zdravstvene skrbi; preko kontaminiranih površina ili preko ruku zdravstvenog osoblja (3). U narušenom crijevnom mikrookolišu vegetativni oblici bakterije se razmnožavaju, koloniziraju sluznicu i proizvode toksine kojima izazivaju upalu i oštećuju sluznicu. Dijagnoza infekcije *C. difficile* zasniva se na detekciji tih toksina u stolici. Terapijski se pristup bazira na obustavi inicijalne antimikrobne terapije, ako je to moguće, antibiotskoj terapiji za eradikaciju *C. difficile* i potpornim mjerama (2,5,7). Preventivne mjere za suzbijanje *C. difficile* infekcije obuhvaćaju higijenu ruku, čišćenje i dezinfekciju površina i predmeta te razumnu uporabu antibiotika (7). Problemi s kojima se suočavaju zdravstveni sustavi danas ogledaju se u gotovo svakom aspektu *C. difficile* infekcije; u zadnjem desetljeću značajno je porasla incidencija infekcije *C. difficile* u svijetu, a pojavile su se i neke nove populacije pogođene bolešću (6), kao i sojevi bakterije povezani s težom kliničkom slikom (2,9,10). Na polju dijagnostike problem predstavlja još uvijek nezadovoljavajuća

točnost dijagnostičkih testova i potreba za definiranjem optimalnog dijagnostičkog algoritma. Što se terapijskih poteškoća tiče, porasla je incidencija neuspješnog liječenja metronidazolom, a rekurentni oblici bolesti i dalje se javljaju u 20% – 40% slučajeva te njihovo liječenje predstavlja izazov (6).

2. INFEKCIJA BAKTERIJOM *C. DIFFICILE* (CDI)

Općenita definicija CDI

Definicija slučaja CDI uključuje prisutnost simptoma (obično proljeva) te test stolice pozitivan na toksine bakterije ili toksigenu bakteriju *C. difficile*, ili kolonoskopski nalaz pseudomembranoznog kolitisa (7).

Definicija CDI

Dijagnoza CDI trebala bi biti utemeljena na kombinaciji kliničke slike i laboratorijskih nalaza. Uobičajeni slučaj *C. difficile* infekcije uključuje sljedeće nalaze: 1) prisutnost proljeva, definiranog kao postojanje 3 ili više neformiranih stolica u 24 sata; 2) pozitivan rezultat testa stolice na toksigeni soj *C. difficile* ili toksine bakterije ili kolonoskopski/histopatološki dokaz pseudomembranoznog kolitisa. Izloženost antimikrobnim ili antineoplastičkim lijekovima u prethodnih 8 tjedana anamnestički postoji u većini slučajeva, no nije ovdje uključena zbog povremenih slučajeva bez prethodnog uzimanja antibiotika, obično izvanbolničkih (7).

Rekurentni slučaj CDI definira se kao nova epizoda bolesti (tj. zadovoljava kriterije za CDI) koja se javlja 8 tjedana ili kraće od nastanka zadnje epizode, pod uvjetom da su simptomi prethodne epizode nestali s ili bez primjenjene terapije (11). U svakodnevnoj praksi nije moguće razlikovati rekurentni oblik bolesti zbog relapsa (ponovno javljanje simptoma u još uvijek prisutnoj CDI) od rekurentne infekcije kao posljedice reinfekcije (8).

Teški slučaj CDI definira se kao onaj koji zadovoljava bilo koji od sljedećih kriterija, unutar 30 dana od nastanka simptoma: 1) prijem na jedinicu intenzivne njege zbog komplikacije

povezanih s CDI (npr. stanje šoka); 2) operativni zahvat (npr. kolektomija) zbog refraktornog kolitisa, toksičnog megakolona ili perforacije; 3) smrtni ishod (11).

Slučajevi CDI definirani su također prema njihovoj izloženosti sustavima za zdravstvenu skrb:

- 1.) Slučajevi CDI s nastankom u zdravstvenoj ustanovi, povezani sa zdravstvenom ustanovom (*engl.* healthcare facility-onset, healthcare facility-associated, HO-HCFA) su oni s početkom simptoma CDI nakon 48 sati ili duže od prijema u zdravstvenu ustanovu.
- 2.) Slučajevi CDI s nastankom u izvanbolničkim uvjetima, povezani sa zdravstvenom ustanovom (*engl.* community-onset, healthcare facility-associated, CO-HCFA) su oni s početkom simptoma CDI izvan zdravstvene ustanove ili unutar 48 sati nakon prijema u zdravstvenu ustanovu, pod uvjetom da su simptomi počeli unutar 4 tjedna od zadnjeg otpusta iz zdravstvene ustanove.
- 3.) Slučajevi CDI u izvanbolničkim uvjetima (*engl.* community-associated CDI, CA-CDI) su oni s početkom simptoma CDI izvan zdravstvene ustanove ili unutar 48 sati nakon prijema u zdravstvenu ustanovu, pod uvjetom da je početak simptoma 12 tjedana ili više nakon zadnjeg otpusta iz zdravstvene ustanove.
- 4.) Slučajevi s neodređenom bolesti su oni s početkom simptoma CDI koji ne odgovara ni jednom od gore navedenih kriterija za izloženost sustavu zdravstvene skrbi – npr. bolesnik sa simptomima CDI u izvanbolničkim uvjetima koji je iz iste ili neke druge zdravstvene ustanove otpušten između 4 i 12 tjedana prije početka simptoma (11).

3.EPIDEMIOLOGIJA

Zadnje desetljeće bilježi značajan porast infekcija povezanih s *C. difficile*. Od otkrića bakterije kao uzročnika pseudomembranoznog kolitisa prije više od trideset godina, *C. difficile* postao je vodeći uzrok dijareje u bolničkim sredinama, odnosno uzročnik jedne od vodećih nozokomijalnih infekcija uopće (6); oko 20%-30% postantimikrobnih proljeva povezuje se etiološki s ovim uzročnikom (7). I dok je incidencija većine infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi (*engl.* healthcare associated infections, HAI) u padu, CDI ostaje na povijesno visokim razinama (14). Tijekom devedesetih godina 20. stoljeća incidencija CDI u SAD-u u bolnicama za akutnu skrb bila je oko 30 – 40/100 000 godišnje da bi se taj broj i više nego udvostručio (84/100 000) u 2005. god (2,15). Danas se u SAD-u bilježi oko 3 milijuna slučajeva dijareje i kolitisa godišnje (2), a svake godine kao posljedica dijareje povezane s CDI umire 14 000 ljudi. 94% slučajeva povezano je s primanjem nekog oblika medicinske skrbi; u 25% slučajeva prvi se simptomi javljaju u bolničkom okruženju, a u 75% slučajeva u domovima za njegu te u izvanbolničkom okruženju, u ljudi koji su prethodno bili liječeni u bolnici (14). U Engleskoj je 1999. godine CDI bio primarni uzrok smrti u 499 osoba, a 2006. u njih 3393 (15). Uz prevalentne endemske slučajeve CDI, počele su se javljati epidemije na internacionalnoj razini. Posebna je svojim opsegom i utiskom epidemija iz 2003.godine u kanadskoj pokrajini Quebec, gdje su istovremeno bile zahvaćene sve velike bolnice u regiji, a incidencija CDI se učetverostručila u odnosu na godine prije: 2002. zabilježena je incidencija CDI 25,2/100 000, a 2003. iznosila je 92,2/100 000. Kao i endemski, epidemijski su se slučajevi češće pojavljivali u starijih bolesnika (867 na 100,000 starijih od 64 godine). Uz epidemiju je vezan značajan porast težih oblika bolesti kao što su septički šok, toksični megakolon i perforacija kolona (12) i mortaliteta od CDI; jedna studija na uzorku od 1703 ispitanika pokazala je CDI kao pripisivi uzrok smrti u 6,9% slučajeva, a indirektno u dodatnih 7,5% slučajeva (15). U svijetu se također opisuju slučajevi CDI i u nekih populacija s niskim rizikom za bolest, kao npr. zdrave trudnice ili vanbolnički pacijenti koji prethodno nisu uzimali antibiotike (6,7,12). S terapijskog stanovišta, od 2000. godine značajno su veće stope

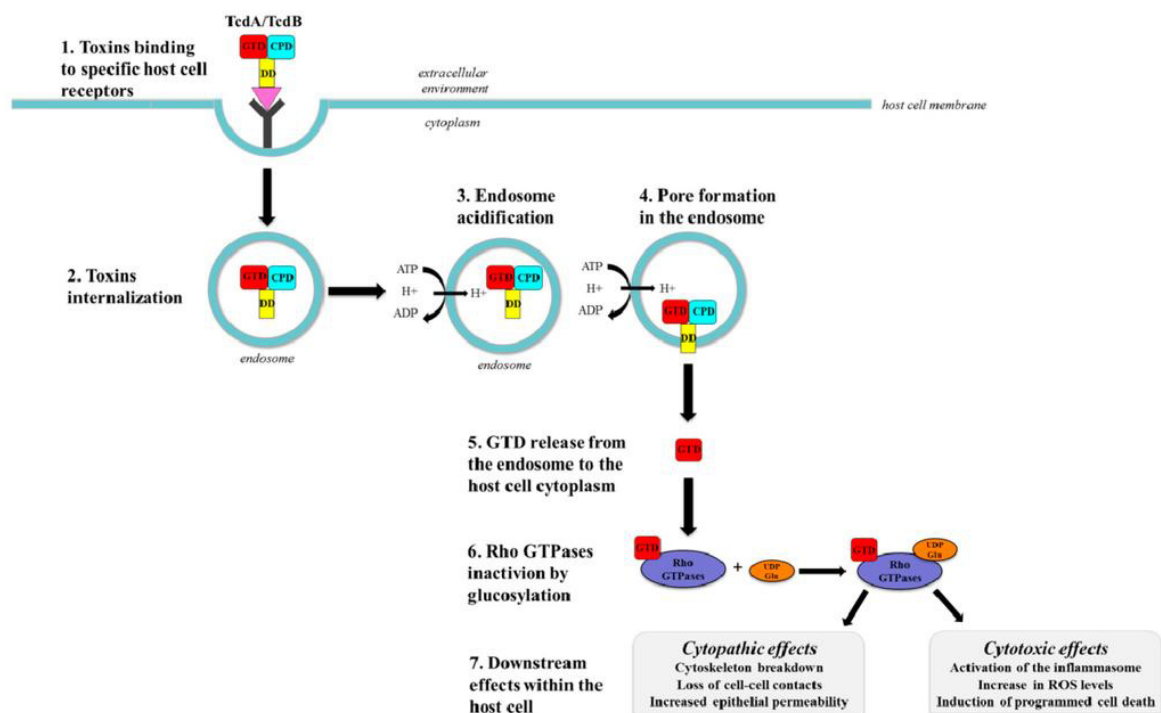
neuspješnog liječenja metronidazolom (6,12,15) s rekurentnom infekcijom i dužim vremenom do nestanka simptoma CDI. Rastuća incidencija teških oblika CDI u Sjevernoj Americi i Kanadi od 2000. godine povezana je u velikom broju slučajeva s do tada rijetkim sojem *C. difficile* kojeg karakteriziraju hiperprodukcija klostridijskih A i B toksina, prisutnost trećeg, binarnog toksina te visoka rezistencija na fluorokinolone. Na osnovi analize restrikcijskom endonukleazom svrstan je u grupu BI, prema karakteristikama dobivenih metodom gel elektroforeze nazvan je NAP1 (*engl.* North American pulse-field gel electrophoresis 1), a prema ribotipizaciji metodom PCR imenovan je ribotipom 027 te se stoga soj uobičajeno naziva NAP1/BI/027 (7,12,13). Soj je izoliran u gotovo 82% slučajeva u kanadskoj pokrajini Quebec, što bi moglo govoriti u prilog efikasnijem prijenosu u odnosu na druge sojeve. Vjeruje se kako su rezistencija soja na fluorokinolone združena sa sve većom uporabom te skupine antibiotika u bolnicama Sjeverne Amerike (7), prisutnost binarnog toksina i pojačana sporulacija *in vitro* (12,13) pridonijele njegovoj diseminaciji i pojavi epidemija. Infekcije NAP1/BI/027 sojem osobito su česte kod hospitaliziranih bolesnika starije životne dobi, a glavni rizici za infekciju uključuju stariju životnu dob, hospitalizaciju i antimikrobno liječenje, naročito fluorokinolonima i cefalosporinima. Iako otežana, kontrola bolničkih epidemija ovim sojem moguća je provođenjem adekvatnih mjera (pranje ruku, dezinfekcija prostora, izolacija bolesnika, restrikcija uporabe antibiotika) (13). Dodatan teret za zdravstvo od strane CDI je i onaj ekonomski; u SAD-u se godišnjeza CDI izdvaja najmanje milijardu dolara više u zdravstvenom sustavu (15), a hospitalizirani bolesnik s CDI opterećuje zdravstveni sustav za 33%- 54% više u odnosu na sličnog bolesnika bez CDI (6).

4. PATOGENEZA

Oko 40%-60% novorođenčadi kolonizirano je bakterijom *C. difficile*, iako je stvarna infekcija u ovoj populaciji rijetka. Kolonizacija je znatno rjeđa u zdravih odraslih (2 – 4%). Niska stopa incidencije CDI u djece i novorođenčadi mogla bi se pripisati manjku receptora za klostridijske toksine na epitelnim stanicama crijeva, a u asimptomatskih odraslih postojanju protutijela na toksine (6), kao i kolonizaciji netoksigenim sojevima *C. difficile* gdje onda postoji natjecanje za nutrijente ili pristup sluznici. Iako anaerobne infekcije u velikoj većini slučajeva imaju endogeni izvor, klostridijske su infekcije i trovanja često uzrokovani mikroorganizmima iz egzogenog izvora. Upravo je sposobnost stvaranja spora razlog zbog kojeg *C. difficile*, inače strogi anaerob u vegetativnom obliku, preživljava u okolini i predstavlja egzogeni izvor infekcije. Primarni način prijenosa s jedne na drugu osobu je neizravnim feko-oralnim putem, prvenstveno u hospitaliziranih bolesnika. Rizik kolonizacije bakterijom povećava se s dužinom hospitalizacije, što govori u prilog postojanju dnevnog kumulativnog rizika od izlaganja sporama u bolničkom okruženju (7). Spore, infektivni oblik bakterije, su metabolički inaktivne, rezistentne na visoku temperaturu, isušivanje, većinu kemijskih agensa i u okolišu mogu preživjeti mjesecima pa čak i godinama(2). Spore omogućuju preživljavanje *C. difficile* u domaćinu i odgovorne su za rekurentne oblike bolesti nakon završene terapije (7). Iako se normalna crijeвна flora odupire kolonizaciji i prerastanju ove bakterije, uporaba antibiotika dovodi do promjena flore, što omogućuje proliferaciju *C. difficile*, stvaranje toksina i proljev (2).

5. PATOFIZIOLOGIJA

Genom *C. difficile* omogućuje bakteriji preživljavanje u gastrointestinalnom traktu domaćina ekspresijom različitih čimbenika, međutim za kolonizaciju i proizvodnju toksina, glavnih čimbenika virulencije ovog organizma, važni su i fiziološki faktori, ponajprije narušena barijera koju predstavlja crijevna mikroflora. U takvom okruženju endogene ili egzogene spore klijaju i počinje eksponencijalna faza rasta, odnosno kolonizacija. Nju potpomažu različiti proteini kodirani genima koji su međusobno blizu smješteni na genomu. Zatim počinje drugi korak u patofiziološkom tijeku, a to je proizvodnja toksina (9). Kolitis i dijareja posljedica su djelovanja dvaju egzotoksina *C. difficile*: toksin A (TcdA) poznat kao i enterotoksin te toksin B (TcdB), tzv. citotoksin (16). Toksin B je *in vitro* do 1000 puta jači od toksina A. Oba toksina kodirana su na posebnom mjestu u genomu tzv. lokusu patogenosti (*engl.* pathogenicity locus, PaLoc). Lokus patogenosti sadrži pet gena koji svi kodiraju za čimbenike važne za mehanizam nastanka bolesti. Toksini pripadaju obitelji velikih klostridijskih glukozilirajućih proteina nazvanih tako zbog veličine, citotoksičnosti i mehanizma djelovanja. Oba toksina djeluju kao glukozil-transferaze, prenoseći molekule UDP-glukoze na stanične GTP-aze kao što su Rho i Rac, važne u regulaciji staničnih signalnih putova. Glukozilacija remeti te putove dovodeći do strukturalnih promjena, sprječavanja stanične diobe i prijenosa kroz staničnu membranu te smrti stanice (9). Toksin A odgovoran je za povećanu permeabilnost crijevnog epitela i sekreciju tekućine, a toksin B izaziva jak upalni odgovor, zajedno dovodeći do proljeva i kolitisa (16). Mehanizam djelovanja toksina može se raščlaniti na nekoliko koraka, a oni uključuju: 1) vezanje toksina na stanične receptore; 2) unos toksina u stanicu endocitozom posredovanom receptorima; 3) zakiseljavanje endosoma; 4) formiranje pore na endosomu; 5) oslobađanje N-terminalne domene glukoziltransferaze; 6) inaktivacija Rho GTPaze glukozilacijom (17). Ovi koraci prikazani su na slici 1.



Slika 1. Mehanizam djelovanja toksina A i B (preuzeto iz reference 17)

6. RIZIČNI ČIMBENICI

Intrinzični rizični čimbenici

Starija životna dob i postojanje komorbiditeta dobro su poznati rizični čimbenici za CDI. Stopa CDI u bolesnika starijih od 65 godina je 20 puta veća od one u mlađih bolesnika. Komorbiditeti predisponiraju bolesnika infekciji jednim dijelom kroz veći kontakt sa sustavom zdravstvene skrbi i potrebom za hospitalizacijom (6).

Ekstrinzični rizični čimbenici

Uporaba antibiotika najvažniji je promjenjivi čimbenik rizika za CDI. Gotovo svaki antibiotik ima potencijal uzrokovati CDI (tablica 2.), a rizik terapije određenim antibiotikom ovisi o lokalnoj prevalenciji sojeva rezistentnih na određeni antibiotik. Rizik povećavaju duže vrijeme uzimanja antibiotika kao i uzimanje više antimikrobnih lijekova, međutim, čak i pojedinačna doza lijeka, npr. u kirurškoj profilaksi, povećava rizik za kolonizaciju i simptomatsku bolest (7).

Dominantna grupa antibiotika povezana s CDI odražava promjene u učestalosti uporabe pojedine kategorije antibiotika. Inicijalno se CDI povezivao s uporabom klindamicina i cefalosporina, a u novije vrijeme i fluorokinolona. Tako je velika uporaba fluorokinolona povezana s trostruko većim rizikom za CDI, a populacijski pripisivi udio za fluorokinolone (*engl.* population-attributable factor, PAF) iznosi 36%, dok za bolesnike koji se liječe cefalosporinima druge generacije iznosi samo 10%, a za one na klindamicinu 1.5% (6). Rizični čimbenici za inicijalnu CDI prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Rizični faktori za inicijalnu epizodu CDI (preuzeto iz reference 12, uz malu modifikaciju)

Antimikrobna terapija: liječenje unazad tri mjeseca; uzimanje više antimikrobnih lijekova
Starija životna dob (≥ 65 godina)
Teška podležuća bolest
Imunokompromitirani bolesnici: imunosupresivi, HIV infekcija, antineoplastični lijekovi
Hranjenje na sondu i gastrointestinalna operacija
Gastrointestinalni lijekovi, uključujući antacide
Boravak na jedinici intenzivnog liječenja (JIL)
Produljena hospitalizacija

Tablica 2. Antibiotici i rizik za kolonizaciju bakterijom *C. difficile* (preuzeto iz reference 12, uz malu modifikaciju)

Rizik za kolonizaciju bakterijom <i>C. difficile</i>	Antibiotici
Visok	Klindamicin; cefalosporini druge i treće generacije, neki fluorokinoloni
Srednji	Makrolidi; amoksicilin/ampicilin; amoksicilin/klavulanska kiselina
Nizak	Aminoglikozidi; vankomicin; trimetoprim; tetraciklini; benzilpenicilin; antipseudomonasni antibiotici \pm inhibitori β - laktamaza

Hospitalizacija, odnosno smještaj u zdravstvenim ustanovama za dugoročnu skrb te akutna skrb u bolnicama veliki su čimbenici rizika za CDI. Osobe su pod rizikom zbog veće vjerojatnosti da su starije, s postojanjem komorbiditeta i na antibiotskoj terapiji. U bolničkom je okruženju i veći postotak kolonizacije bakterijom *C. difficile* (20%–40%) u odnosu na izvanbolničku populaciju. Takve su sredine mjesta veće kontaminacije bakterijom, osobito područja povezana s pojavom slučajeva CDI. Potencijalni izvori spora su kontaminirane površine, bolničko osoblje, bolesnici s CDI, asimptomatski nosioci te bolnički zrak (9). Smatra se da su ruke zdravstvenog osoblja povremeno kontaminirane sporama *C. difficile* glavni način širenja uzročnika u vrijeme kad nema epidemija (7). Tablica 3. prikazuje faktore povezane s povećanom incidencijom nozokomijalne CDI.

Tablica 3. Faktori povezani s povećanom incidencijom nozokomijalne CDI

(preuzeto iz reference 12, uz malu modifikaciju)

Veći broj bolesnika koji : 1) su dobi od 65 godina ili stariji 2) su imunokompromitirani 3) imaju druge komorbiditete

Uporaba visokorizičnih antibiotika kao npr. 8-metoksi-flurorokinolona

Uporaba klizmi i prokinetika

Preopterećenost zdravstvenih djelatnika i smanjeno pridržavanje higijene ruku

Ograničenost resursa koja dovodi do neadekvatne dezinfekcije okoliša

Brza izmjena bolesnika u bolničkim krevetima

Prenapučenost bolnice

Prolongirana hospitalizacija

Zajednički zahodi koje koriste bolesnici

Neadekvatne jedinice za izolaciju inficiranih pacijenata

Pojava epidemijskih sojeva

Ostali rizični čimbenici

Kao rizični čimbenici za CDI još se navode imunosupresija, npr. zbog kemoterapije, uzimanja imunosupresiva pri transplantaciji organa ili u infekciji virusom humane imunodeficijencije (HIV) (7). Novija grupa bolesnika prepoznata kao rizična su oni s upalnim bolestima crijeva, osobito ako je podležeće stanje kolitis (6). Razlozi za veću incidenciju CDI, ali i veći mortalitet u tih bolesnika su mnogostruki: oštećenje normalne barijere kolona, primjena imunosupresiva i antibiotika, malnutricija i česte hospitalizacije zbog egzacerbacija bolesti (2,6). U rizične čimbenike spadaju i različite manipulacije na gastrointestinalnom traktu, uključujući operacije i hranjenje preko sonde (7), a u posljednje su vrijeme kontroverzni lijekovi koji smanjuju lučenje želučane kiseline, posebice inhibitori protonske pumpe (IPP), naglašavajući važnost želučane kiseline kao zaštite od ingestiranih spora. Ne zna se još sa sigurnošću postoji li stvarna povezanost primjene ovih lijekova s CDI ili je riječ o utjecaju čimbenika zabune, kao npr. težine podležećeg stanja ili trajanja hospitalizacije (6).

7.KLINIČKA SLIKA

Klinički se infekcija toksigenim sojevima *C. difficile* prezentira na različite načine, od stanja asimptomatskog nosioca, preko blage ili umjerene dijareje, do pseudomembranoznog i fulminantnog kolitisa s mogućim fatalnim ishodom (7). Različitost kliničke slike ovisi o imunosnim faktorima domaćina te virulentnim faktorima mikroorganizma (18).

Većina slučajeva dijareje povezana s antibioticima je nepoznatog uzroka te se klasificira kao nespecifična dijareja. Takve obično reagiraju na prestanak primjene antibiotika, a moguć mehanizam nastanka u tim je slučajevima poremećeni metabolizam ugljikohidrata zbog promjene flore kolona. Računa se da je *C. difficile* etiološki čimbenik u oko 20% dijareja povezanih s uporabom antibiotika. U oko 3% slučajeva uzročnici su patogeni poput *S.aures*, *Clostridium perfringens* i *Candida albicans*. Dijareja specifična za antibiotik postoji u slučaju nuspojava vezanih za neke antibiotike, npr. eritromicin (18).

Asimptomatsko stanje nosioca je ishod infekcije bakterijom *C. difficile* u većini slučajeva. Ti pacijenti predstavljaju rezervoar infekcije i vjerojatno održavaju kontaminaciju bolničkih sredina (18). Liječenje asimptomatskih nosioca nije uspješno niti se preporučuje (2, 7, 8, 18).

Tri ili više vodenastih stolica, bez krvi, u protekla 24h glavni je simptom CDI. Simptomi CDI jave se ubrzo nakon kolonizacije, s medijanom 2-3 dana (7). Vrijeme inkubacije, međutim, ne treba miješati s povećanim rizikom od CDI koji postoji i do nekoliko tjedana nakon prestanka antimikrobne terapije, a rezultat je poremećaja normalne crijevne mikroflore. Blaga se bolest manifestira kao dijareja bez znakova i simptoma kolitisa, dok je u umjereno teškoj bolesti dijareja izraženija, kao i znakovi kolitisa: vrućica, abdominalni grčevi i bol, obično u donjim kvadrantima. Tešku bolest karakterizira leukocitoza $>15,000/\mu\text{L}$, serumski albumin $<3\text{ g/dL}$, i/ili razina serumskog kreatinina $\geq 1,5$ puta u odnosu na stanje prije bolesti (16).

Pseudomembranozni enterokolitis je tipičan nalaz kod uznapredovale CDI. Sigmoidoskopski nalaz pokazuje pseudomembrane – žućkaste uzdignute plakove promjera 2 – 10 mm po sluznici kolorektuma. Bolesnici s pseudomembranoznim kolitisom imaju ozbiljniju bolest od onih s kolitisom bez pseudomembrana (16).

Fulminantni kolitis javlja se u 3% bolesnika s CDI (18), a obilježen je vrućicom, hipovolemijom zbog dijareje, jakim boli u donjim kvadrantima ili difuznom abdominalnom boli, distenzijom abdomena, teškom laktičnom acidozom, hipoalbuminemijom i izraženom leukocitozom ($\geq 40,000$ leukocita/ μL). Ovo stanje može dovesti do perforacije kolona ili toksičnog megakolona, a komplikacije uključuju i elektrolitni disbalans, prerenalnu insuficijenciju te sepsu i na kraju smrt (16). Bolesnici s ileusom ili toksičnim megakolonom ne trebaju imati proljev kao simptom CDI. Također, kliničari bi trebali posumnjati na CDI u hospitaliziranih bolesnika s visokom leukocitozom te dati stolicu na testiranje (7).

8. DIJAGNOZA

Dijagnoza CDI temelji se na kliničkoj slici bolesti potvrđenoj mikrobiološkim dokazom toksina *C. difficile* i toksin-producirajuće *C. difficile* u stolici, u odsutnosti drugog uzroka, ili na dokazu pseudomembranoznog kolitisa kolonoskopski odnosno histopatološki (8).

Pregled i testovi stolice

U simptomatskih pacijenata, uzorke za laboratorijske testove treba uzimati samo na neformiranoj, proljevastoj stolici (7,8), osim u slučaju ileusa uzrokovanog CDI (7). Testiranje asimptomatskih pacijenata na *C. difficile* i njezine toksine nije od kliničke koristi i ne preporuča se, osim u epidemiološke svrhe (7). Proljev (dijareja) čine neformirane stolice tj. one koje poprimaju oblik posude za uzimanje uzorka ili koje odgovaraju tipovima 5 – 7 na Bristolskoj skali stolice te tri stolice u 24 sata ili manje uzastopnih sati, ili stolica češća od uobičajene za pojedinca (8).

U stolici može biti prisutna krv u težem kolitisu, no obilne krvave stolice nisu tipičan nalaz. Nalaz leukocita prisutan je u približno polovici slučajeva kolitisa zbog *C. difficile* (2).

U laboratorijskoj dijagnostici CDI postoje različiti pristupi, no još uvijek nije utvrđen najbolji standardni laboratorijski test za dijagnozu (8). Kultura stolice nije klinički prihvatljiva zbog dugotrajnosti pretrage i dobivanja rezultata (rutinski traje 2 – 3 dana, a rezultate treba čekati i do 9 dana), no svojom osjetljivošću i specifičnošću te identifikacijom toksigenog izolata služi kao standard prema kojem bi se trebali ravnati rezultati drugih kliničkih testova. Trajanje pretrage i troškovi usmjerili su fokus dijagnostičkog postupka na testove bazirane na antigenima koji identificiraju toksine bakterije (7).

- Test koji se najčešće koristi u većini laboratorija je enzimski imunoesej (*engl.* enzyme immunoassay, EIA) za toksine A i B, prije svega zbog njegove jednostavnosti i manjih troškova u odnosu na osjetljiviji test na citotoksine stolice (7). Osjetljivost testa varira od 60% do 81%, a specifičnost od 91% do 99,4%. Zbog manjka osjetljivosti i

pozitivne prediktivne vrijednosti u populacijama s niskom prevalencijom, kliničke smjernice drže ovaj test suboptimalnim za dijagnozu CDI (7,8).

- Test na citotoksine (*engl.* cell culture cytotoxicity assay, CCA) izvodi se inokulacijom uzorka stolice na sloj određene stanične linije (npr. humanih fibroblasta) te uočavanjem citopatskog učinka uzrokovanog toksinom. Nakon opaženog citopatskog učinka, izvodi se neutralizacija specifičnim antiserumom, npr. antitoksinom *C. sordellii*(9). Osjetljivost ovog testa kao jedinog u dijagnozi bolesti varira od 67% do 100% (7). Test nije dostupan u većini bolnica zbog potrebe za postrojenjem s kulturom tkiva, a nedostatak je i vrijeme potrebno za izvođenje testa, 24 do 48 sati (18).
- Testovi za zajednički antigen *C. difficile* – glutamat dehidrogenazu služe za detekciju istoimenog enzima (*engl.* glutamat dehydrogenase, GDH). GDH je metabolički enzim koji je u visokim razinama prisutan u svih sojeva *C. difficile*(9). Razvijeno je nekoliko testova koji detektiraju GDH koristeći EIA metodologiju. Ti testovi pokazuju osjetljivost od 85% do 95% te specifičnost od 89% do 99% te imaju visoku negativnu prediktivnu vrijednost što ih čini pogodnim za brzi probir kad se kombiniraju s metodom koja detektira toksine (7).
- PCR u stvarnom vremenu (*engl.* real-time PCR) je test koji detektira gen za toksin *C. difficile* te bi mogao postati alternativni zlatni standard kulturi stolice. U studiji sa toksigenom kulturom kao zlatnim standardom, osjetljivost testa za *C. difficile* je bila 86%, specifičnost 97%, pozitivna prediktivna vrijednost 90%, a negativna prediktivna vrijednost 96% (2).

Za dijagnozu CDI preporuča se slijediti algoritam u dva ili tri koraka pri čemu se pozitivan rezultat prvog testa potvrđuje s jednim ili dva potvrdna testa; uzorci stolice prvo se mogu testirati pomoću testa na GDH ili na toksine A i B, ili pak testom amplifikacije nukleinske kiseline (*engl.* nucleic acid amplification test, NAAT). Negativne uzorke stolice ne treba dalje testirati, dok bi se oni pozitivni ponovno trebali testirati metodom za detekciju slobodnih

toksina u stolici ili testom za GDH odnosno za TcdB gen, ovisno o metodi korištenoj u incijalnom probiru. U slučaju odsutnosti slobodnih toksina u stolici, ali pozitivnog testa na GDH odnosno TcdB gen, nije moguće razlikovati CDI od asimptomatske kolonizacije. Obično se preporučuje koristiti detekciju GDH u stolici kao sredstvo probira za CDI, a zatim je potvrditi pomoću NAAT-a kao što je PCR za detekciju toksigenog soja *C.difficile* (8).

Ostale dijagnostičke metode

Pseudomembranozni kolitis može se dijagnosticirati samo direktnom vizualizacijom pseudomembrana metodom endoskopije donjeg intestinalnog trakta (bilo sigmoidoskopijom ili kolonoskopijom) ili histopatološkim pregledom. Međutim, pseudomembrane će tim tehnikama biti vidljive samo u 51%-55% slučajeva CDI dijagnosticiranih kombinacijom kliničkih i laboratorijskih kriterija koji uključuju kulturu pozitivnu na *C. difficile* i pozitivni test stolice na citotoksin. Sam nalaz pseudomembranoznog kolitisa pokazatelj je teške CDI (7).

9. TERAPIJA

Opći principi

Čim se dijagnosticira CDI, nužne su adekvatne mjere za kontrolu infekcije da bi se spriječilo daljnje širenje infekcije u bolnici. Te se mjere odnose na ranu dijagnozu CDI, edukaciju osoblja, nadzor, izolaciju bolesnika, higijenu ruku, nošenje zaštitnih odora, čišćenje prostora i medicinske opreme te razumnu uporabu antibiotika (8).

Snažna je preporuka čim prije prekinuti bilo kakvo nepotrebno liječenje antibioticima koji su doveli do CDI (7,8,16); ta mjera može imati utjecaj na rizik od ponovnog javljanja bolesti (7). Od potpornih mjera važna je adekvatna nadoknada tekućine i elektrolita. Od lijekova treba izbjegavati one koji smanjuju motilitet probavnog trakta (8,16), a trebalo bi i revidirati potrebu za inhibitorima protonske pumpe (8).

Preporuke za liječenje specificirane su za različite grupe pacijenata, sa svrhom poboljšanja kliničkih smjernica u liječenju CDI (8):

1. prva epizoda CDI: blaga do umjereno teška

Uobičajeno korišteni antibiotici u liječenju CDI su metronidazol i vankomicin. Oralnim metronidazolom se izaziva dobar klinički odgovor, a prednost mu je niska cijena te manji rizik za selekciju enterokoka rezistentnih na vankomicin (*engl.* vancomycin-resistant enterococci, VRE). Rezultati nedavne analize podataka iz druge faze triju randomiziranih kliničkih pokusa pokazali su sveukupno značajno veću uspješnost vankomicina naspram metronidazolu; jedna je retrospektivna analiza podataka o hospitaliziranim bolesnicima s CDI pokazala da je simptomatski odgovor značajno brži na terapiju vankomicinom od one metronidazolom. Opisana je i smanjena klinička učinkovitost metronidazola u liječenju specifičnih ribotipa koji uzrokuju CDI, npr. 027. Unatoč izvještajima o promjeni rezistencije na antibiotike te prevalenciji ribotipa, *in vitro* studije pokazale su kako su minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) za vankomicin i metronidazol u liječenju sporadične CDI ostale relativno niske kroz godine te su potrebne veće grupe ispitanika kako bi se utvrdilo kliničko značenje izolata *C. difficile* smanjene osjetljivosti na metronidazol (8).

U neepidemijskim slučajevima blage do umjereno teške CDI očito izazvane antibioticima, može se pokušati obustaviti primjenu antibiotika i promatrati klinički odgovor tijekom 48 sati, uz pažljivo praćenje kliničkog stanja bolesnika i promptno uvođenje antibiotske terapije u slučaju njegova pogoršanja (8).

Metronidazol se primjenjuje oralno u dozi od 500 mg tri puta dnevno kroz 10 – 14 dana (7).

2. Teška CDI

Tri su indikatora mogućeg teškog ili kompliciranog tijeka bolesti te bi se trebala razmotriti tijekom uvođenja terapije: dob, leukocitoza i vršna razina serumskog kreatinina. Važnost starije životne dobi leži vjerojatno u slabosti imunosnog sustava protiv *C. difficile* i toksina bakterije; leukocitoza odražava razinu inflamacije kolona te su komplikacije mnogo češće u bolesnika s leukocitozom $\geq 15,000$ stanica/ μL nego u onih s normalnim brojem leukocita; povišena razina serumskog kreatinina može odražavati teški proljev s posljedičnom dehidracijom ili neadekvatnom renalnom perfuzijom (7).

Na osnovi svojih farmakokinetičkih svojstava, vankomicin je u slučaju teške CDI superioran metronidazolu te se primjenjuje oralno u dozi od 125 mg četiri puta dnevno kroz 10 dana (8).

Bolesnici s fulminantnim kolitisom koji ne odgovaraju na antibiotsku terapiju i razviju sistemsku toksičnost, peritonitis ili toksični megakolon zahtijevaju kirurško liječenje. Kolektomiji bi trebalo pristupiti prije no što kolitis jako uznapreduje. Razina laktata u serumu može, između ostalog, poslužiti kao indikator težine bolesti (operirati prije nego što poraste iznad 5,0 mM) (8).

3. Prva ponovna epizoda CDI ili rizik za ponovnu epizodu

Učestalost ponovnih epizoda CDI koje zahtijevaju liječenje i dalje predstavlja veliki problem. 6%-25% bolesnika liječeno od CDI ima barem jednu ponovnu epizodu. Nedavna izvješća govore o povećanju učestalosti rekurentne bolesti nakon liječenja metronidazolom, osobito u bolesnika starijih od 65 godina. Iako liječenje prve ponovne epizode metronidazolom ili vankomicinom ne utječe na učestalost pojavnosti druge rekurentne epizode, preporučuje se uporaba vankomicina u slučajevima s leukocitozom $\geq 15,000$ stanica/ μL (ili rastući serumski kreatinin) gdje je veći rizik od razvoja komplikacija (7). Postoji jednaka snaga dokaza za opravdanu uporabu fidaksomicina u prvoj rekurentnoj epizodi kao i za uporabu vankomicina; fidaksomicin se uzima oralno u

dozi od 200 mg dva puta dnevno kroz 10 dana, a vankomicin oralno u dozi od 125 mg četiri puta dnevno kroz 10 dana. Metronidazol se primjenjuje u dozi od 500 mg oralno tri puta dnevno kroz 10 dnevno (8).

4. Višestruko ponavljajuća CDI

U blagim ili umjereno teškim slučajevima druge ili neke kasnije ponovljene epizode CDI preporučuju se vankomicin ili fidaksomicin (8). Metronidazol se ne bi trebao koristiti u kasnijim ponavljanim epizodama CDI zbog moguće kumulativne neurotoksičnosti (7).

Značajan udio pacijenata izliječi se primjenom oralnog vankomicina pulsno ili postepenim smanjivanjem doze (7,8). Fidaksomicin se primjenjuje oralno u dozi od 200 mg dva puta dnevno kroz 10 dana, a vankomicin oralno u dozi od 125 mg četiri puta dnevno kroz 10 dana.

U bolesnika rezistentnih na opetovanu antibiotsku terapiju preporuča se fekalna transplantacija u kombinaciji s oralnim antibioticima (8).

Terapijski odgovor

Terapijski odgovor postoji u slučaju smanjenja učestalosti stolice ili poboljšanja konzistencije stolice i parametara težine bolesti (kliničkih, laboratorijskih i radioloških). U svakom drugom slučaju radi se o terapijskom neuspjehu. Terapijski odgovor potrebno je promatrati dnevno i procijeniti nakon najmanje 3 dana, pod pretpostavkom da se stanje bolesnika ne pogoršava na primjenjenu terapiju. Odgovor na terapiju metronidazolom, primjerice, može se očekivati tek za 3 – 5 dana. Potrebno je i do nekoliko tjedana nakon indukcije kliničkog odgovora da se učestalost stolice i njena konzistencija vrate u normalu (8).

Liječenje CDI fekalnom transplantacijom

Kako raste epidemija CDI, tako je i sve veći broj terapijskih neuspjeha i bolesnika s rekurentnom infekcijom. Nakon rezolucije inicijalne infekcije, simptomatski se bolest ponovno javlja u približno 20% bolesnika (20). Rizik od ponovljene infekcije raste na 40% kod onih koji su već imali jednu novu epizodu infekcije te na više od 60% u onih s dvije ili više epizoda. Takav porast rizika za javljanje rekurentne infekcije vjerojatno je dijelom uzrokovan selekcijom bolesnika s manjkavom imunosti protiv *C. difficile*. Nakon kolonizacije, u asimptomatskih nosilaca dolazi do ranog porasta serumskih IgG protutijela protiv toksina A, dok isti izostaje u onih sa simptomima CDI (15). Osim neadekvatnog imunosnog odgovora na *C. difficile*, drugi vjerojatni mehanizam za rekurentnu bolest je kontinuirana disrupcija flore kolona (20).

Ti, i drugi faktori koji pridonose razvoju rekurentne CDI prikazani su u tablici 4.

Tablica 4. Važni faktori za razvoj rekurentne CDI (preuzeto iz reference 20, uz malu modifikaciju)

Neadekvatan odgovor antititijela na toksine
Trajna disrupcija crijevne flore
Uznapredovala životna dob
Nastavljanje s antimikrobnom terapijom nevezanom s <i>C. difficile</i> nakon prve epizode CDI
Duža hospitalizacija
Istovremena primjena antacida

Postoje različite terapijske opcije za rekurentnu CDI, a većina ih se bazira na daljnjoj antibiotskoj terapiji. I dok su pristupi utemeljeni na vankomicinu u širokoj uporabi i učinkoviti u mnogih bolesnika, uporaba antibiotika ima dvojak učinak jer dolazi do supresije patogena, ali i supresije protektivnih mikrobiota. Vankomicin je antibiotik s aktivnošću protiv gotovo svih

gram-pozitivnih aerobnih i anaerobnih bakterija te u konačnici može održavanjem stanja promijenjene crijevne flore povećati sklonost CDI (19).

Za razliku od drugih, transplantacija fekalnih mikrobiota (*engl.* fecal microbiota transplantation, FMT) se pokazuje kao učinkovita alternativna metoda liječenja. Ona se zasniva na ponovnoj uspostavi normalne flore preko fecesa donora, korekciji poremećaja i prekidu patogenetskog ciklusa te vraćanju normalne crijevne funkcije (19). Prvi dokumentirani slučaj CDI liječene metodom FMT bio je 1983. godine. Do 1989. godine, uobičajena tehnika primjene FMT-a bila je pomoću retencijskih klizmi. Kasnije su se javile alternativne metode za fekalnu infuziju putem duodenalne i rektalne sonde te kolonoskopije. Nije dokazana superiornost neke pojedinačne metode; na otprilike 200 prikaza slučajeva, neovisno o ruti primjene, postignuta je srednja stopa uspjeha od 96%. Nijedna alternativna metoda terapije rekurentne CDI nije se pokazala visoko učinkovitom, sigurnom i pristupačnom, za razliku od FMT, koja čini se udovoljava tim kriterijima kumulativnom stopom izlječenja većom od 90%, zanemarivom stopom značajnih nuspojava i terapijskim odgovorom unutar nekoliko sati ili dana. To je ujedno i jedina metoda koja omogućuje ponovnu uspostavu filogenetske raznolikosti primateljevih mikrobiota, a bez prolongiranog remećenja normalnog mikrobiološkog sastava (19).

10. PREVENCIJA

C. difficile je važan nozokomijalni patogen koji zahtijeva provođenje univerzalnih mjera opreza (2). Dvije su strategije za prevenciju *C. difficile*: prevencija horizontalnog prijenosa kako bi se izloženost zarazi smanjila na najmanju mjeru te smanjenje utjecaja čimbenika rizika za razvoj CDI u pacijenata kad je izloženost već nastala. Pacijent može u bolničkom okruženju biti izložen sporama *C. difficile* na tri načina: prilikom kontakta sa zdravstvenim osobljem s prolaznom kolonizacijom ruku, prilikom kontakta s kontaminiranom okolinom ili s bolesnikom koji ima CDI. Vjerojatnost zaraze linearno se povećava s vremenom te može

dostići 40% nakon četiri tjedna hospitalizacije. Kako ne postoji samo jedan čimbenik učinkovit u minimalizaciji izloženosti *C. difficile*, potreban je višestruki pristup. Različite metode su više ili manje učinkovite u različitim situacijama, ovisno o lokalnoj epidemiologiji i dostupnosti sredstava (7).

Higijena ruku

Higijena ruku drži se jednom od osnovnih metoda prevencije prijenosa *C. difficile* u bolničkoj sredini, baš kao i većine drugih nozokomijalnih infekcija (7). Pokazalo se kako porastom razine kontaminacije okoliša, raste i prevalencija prijenosa *C. difficile* rukama zdravstvenih djelatnika (21). Antiseptici bazirani na alkoholu poznati su po učinkovitosti u smanjenju prijenosa većine vegetativnih bakterija i virusa rukama, jednostavnosti uporabe i nadilaženju prepreke koju predstavlja relativna nepristupačnost mjesta za pranje ruku u mnogim ustanovama. Spore *C. difficile* su, međutim, poznate po visokoj rezistenciji na alkohol. Zdravstveni djelatnici koji peru ruke sredstvima baziranim na alkoholu jednostavno razmještaju spore po površini kože umjesto da ih fizički uklone mehaničkim pranjem sapunom i tekućom vodom (7).

Zaštitna odjeća

Obzirom da nijedno sredstvo koje se koristi u antiseptičnom pranju ili ribanju ruku nema pouzdani sporicidni učinak na spore *C. difficile*, preporučuje se da zdravstveni djelatnici koriste rukavice pri kontaktu s bolesnikom s CDI (22). Učinkovitost zaštitnog odijela pri rutinskoj skrbi za bolesnike s CDI nije dovoljno istražena, no intuitivno se smatra održivom mjerom jer sprječava kontaminaciju radne odjeće. CDC preporuča uporabu odijela u skrbi za takve bolesnike (21).

Dezinfekcija okoliša

Bolesnici smješteni u sobama u kojima su prethodno boravili bolesnici s uzročnicima rezistentnim na lijekove i sami su se pokazali pod rizikom za stjecanje takvih uzročnika što pokazuje da je okoliš kritičan izvor kontaminacije te da povećava potencijal za širenje infekcije. Važnost okoliša još je veća u slučajevima organizama poput *C. difficile* koji stvaraju spore što opstaju mjesecima na tvrdim površinama zbog njihove otpornosti na isušivanje (21). Sredstva za čišćenje koja su često koriste u bolnicama, poput detergenata s kvartarnim amino-skupinama, nisu sporicidni i možda čak potpomažu sporulaciju. Različiti dezinficijensi učinkoviti su u eliminaciji vegetativnih oblika *C. difficile*, no samo su oni bazirani na kloru te visoko koncentrirane pare vodikova peroksida sporicidni. Pri kontroli kontaminacije okoliša nije važan samo odabir sporicidnih sredstava, već i pravilno čišćenje površina na kojima inače obitavaju spore (kreveti, podovi, telefoni). Izostanak čišćenja često doticanih površina adekvatnim sredstvom može povećati prijenos patogena unutar ustanove (21).

Izolacija

Izolacija zaraženih pacijenata u zasebne sobe ili kohorte osnovna je higijenska mjera kontaktne izolacije za sprječavanje širenje patogena. Obično je izolacija simptomatskih pacijenata s proljevom uzrokovanim *C.difficile* (engl. *C.difficile*-associated diarrhea, CDAD) ključna mjera za kontrolu epidemija CDI. Ukoliko u kliničkoj praksi nije moguće izolirati bolesnike u zasebne sobe, može se razmotriti grupiranje bolesnika u zasebnu kohortu/bolničku sobu za izolaciju. Osim izolacije, ključno je da svaki bolesnik s bilo kakvim oblikom proljeva ima zaseban nužnik, odnosno da ne koristi zajedničke prostorije sa zahodima. Postoji konsenzus da se bolničke epidemije mogu okončati ako su mjere opreza na snazi sve dok se funkcija crijeva nije normalizirala na barem 48 sati (22).

Nadzor nad uporabom antibiotika

Zadovoljavajući nadzor nad uporabom antibiotika uključuje: 1) prekid bilo kakve antimikrobne terapije u bolesnika s CDAD, osim one za samu CDI (22); 2) smanjenje učestalosti i trajanja uporabe antibiotika kao i njihova propisivanja da bi se smanjio rizik za CDI; 3) provedba programa za nadzor nad uporabom antibiotika

Antibiotici koji zahtijevaju nadzor trebali bi se birati na osnovi lokalne epidemiologije i prisutnih sojeva *C. difficile*, a restrikcija nad klindamicinom i cefalosporinima (osim u kirurškoj profilaksi) mogla bi biti od osobite koristi (7).

11. ZAKLJUČAK

Infekcija bakterijom *Clostridium difficile* jedna je od najčešćih infekcija povezanih s primanjem zdravstvene skrbi, najčešće prilikom bolničkog liječenja, ali i u drugim ustanovama gdje borave i njeguju se vulnerabilne skupine, poput staračkih domova. Osim za samog bolesnika, u kojeg se najčešće blagi proljev može zakomplicirati opasnom bolesti kao što je pseudomembranozni kolitis, infekcija predstavlja svojom rastućom incidencijom problem za zdravstvene sustave širom svijeta, zbog lakoće širenja ovog patogena, njegove tvrdokornosti i otpornosti na nepovoljne uvjete okoliša te promjenjivost genoma koja mu olakšava opstati u domaćinu i uzrokovati bolest. Za smanjenje opsega kojeg je dosegla infekcija ovom bakterijom ključno je nekoliko faktora: razvoj novih terapijskih mogućnosti, edukacija zdravstvenog osoblja i bolesnika o važnosti pravilne higijene ruku, agresivna borba za dekontaminaciju prostora povezanih s pružanjem zdravstvene skrbi te razumna upotreba antibiotika. Ustrajanje u provedbi ovih mjera moglo bi uvelike smanjiti teret što ga predstavlja ovaj tvrdokorni patogen za modernu medicinsku praksu.

12.ZAHVALE

Zahvaljujem se prije svega profesorici dr. sc. Ani Budimir što mi je pristala biti mentorom, uputila me u problematiku teme rada i ponudila mi materijale za izradu istog, te bila susretljiva po pitanju savjeta i praktičnih problema vezanih za rad. Zahvaljujem se dalje kolegici Zrinki koja mi je ukazala važnost što skorijeg početka pisanja rada i pomogla mi u istom svojim savjetima i potporom. Hvala mojim prijateljima Martini na pomoći u pretraživanju literature i Peri na tehničkoj podršci i oboje hvala na prijateljskoj potpori. Na kraju, hvala mojoj majci, braći i sestri što su bili uz mene tijekom čitavog studija, sve do njegova završetka, odnosno pisanja ovog rada.

13. POPIS LITERATURE

1. Cleary RK. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis: Clinical manifestations, diagnosis, and treatment. *Dis Colon Rectum*. 1998;41(11):1435-49.
2. Faten NA, *Clostridium difficile* colitis. U: Medscape, Anand BS ur. Medscape [Internet]. New York, NY: Medscape, 2016 [pristupljeno 7.05.2016.] Dostupno na: <http://www.medscape.com>
3. Wikipedia: the free encyclopedia [Internet]. St. Petersburg (FL): Wikimedia Foundation, Inc. 2001 – *Clostridium difficile* colitis; [ažurirano 3.06.2016; pristupljeno 4.05.2016.] Dostupno na: https://en.wikipedia.org/wiki/Clostridium_difficile_colitis
4. Starr J. *Clostridium difficile* associated diarrhoea: diagnosis and treatment. *BMJ*. 2005; 331(7515):498-501.
5. Fridkin S, Baggs J, Fagan Ri sur. Vital signs: improving antibiotic use among hospitalized patients.[Internet] *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. [pristupljeno 14.05.2016.] Dostupno na: http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6309a4.htm?s_cid=mm6309a4_w
6. Ananthakrishnan AN. *Clostridium difficile* infection: epidemiology, risk factors and management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8(1):17-26
7. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, Clifford McDonald L i sur. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31(5):431-55
8. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection (CDI). *Clin Microbiol Infect*. 2013

9. Carroll KC, Bartlett JG. Biology of *Clostridium difficile*: implications for epidemiology and diagnosis. *Annu Rev Microbiol.* 2011;65:501-21.
10. Pant C, Sferra TJ, Deshpande A, Minocha A. Clinical approach to severe *Clostridium difficile* infection: update for the hospital practitioner. *Eur J Intern Med.* 2011;22(6):561-8.
11. McDonald LC, Coignard B, Dubberke E, Song X, Horan T, Kuty PK. Recommendations for surveillance of *Clostridium difficile*-associated disease. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007;28(2):140-5.
12. Matteo Bassetti, Giovanni Villa, Davide Pecori, Alessandra Arzese & Mark Wilcox. Epidemiology, diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* infection, *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2012;10(12):1405-1423, DOI: 10.1586/eri.12.135
13. O'Connor JR, Johnson S, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection caused by the epidemic BI/NAP1/027 strain. *Gastroenterology* 2009;136:1913–1924
14. Centers for Disease Control and Prevention. CDC vital signs: making health care safer.[Internet] Stopping C. difficile infections. [pristupljeno 14.05.2016.] Dostupno na <http://www.cdc.gov/VitalSigns/Hai/StoppingCdifficile>
15. Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile*--more difficult than ever. *N Engl J Med.* 2008;359(18):1932-40.
16. Ofosu A. *Clostridium difficile* infection: a review of current and emerging therapies. *Annals of Gastroenterology: Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology.* 2016;29(2):147-154. doi:10.20524/aog.2016.0006.
17. Di Bella S, Ascenzi P, Siarakas S, Petrosillo N, di Masi A. *Clostridium difficile* Toxins A and B: Insights into Pathogenic Properties and Extraintestinal Effects Toxins (Basel). 2016;8(5). pii: E134. doi: 10.3390/toxins8050134. Review.
18. Hurley BW, Nguyen CC. The Spectrum of Pseudomembranous Enterocolitis and Antibiotic-Associated Diarrhea. *Arch Intern Med.* 2002;162(19):2177-2184. doi:10.1001/archinte.162.19.2177.

19. Bakken JS, Borody T, Brandt LJ, Brill JV, Demarco DC, Franzos MA i sur. Treating *Clostridium difficile* Infection with Fecal Microbiota Transplantation. Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2011;9(12):1044-1049.
doi:10.1016/j.cgh.2011.08.014.
20. Johnson S. Recurrent *Clostridium difficile* infection: a review of risk factors, treatments, and outcomes. *J Infect*. 2009;58(6):403-10.
21. Gerding DN, Muto CA, Owens RC Jr. Measures to control and prevent *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis 2008;46 [Suppl 1]:S43.
22. Vonberg RP, Kuijper EJ, Wilcox MH, Barbut F, Tüll P, Gastmeier P i sur. Infection Control Measures to limit the spread of *Clostridium difficile*. Clin Microbiol Infect. 2008; [Suppl 5]:2-20 doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.01992.x.

14. ŽIVOTOPIS

Zovem se Lovro Skrba. Rođen sam 10. kolovoza 1991. u Zagrebu. Osnovnu školu i opću gimnaziju završio sam u Križevcima. Sudjelovao sam na županijskim i državnim natjecanjima iz biologije i engleskog. Govorim tečno engleski i njemački jezik. 2010. godine upisao sam Medicinski Fakultet Sveučilišta u Zagrebu čiji sam redoviti student.